

## SINTESIS DAN UJI AKTIVITAS BIOLOGIS TURUNAN ANTIBIOTIK C-9154 DARI VANILIN

### SYNTHESIS AND BIOLOGICAL ACTIVITY EVALUATION OF C-9154 ANTIBIOTIC DERIVATIVES FROM VANILLIN

Jumina\*, Dwi Siswanta\*\* dan Abdul Karim Zulkarnain\*\*\*

\*) Laboratorium Kimia Organik, Jurusan Kimia, Fakultas Matematika Ilmu Pasti dan Alam ,  
Universitas Gadjah Mada, \*\*) Laboratorium Kimia Analitik, Jurusan Kimia, Fakultas Matematika  
Ilmu Pasti dan Alam, Universitas Gadjah Mada, \*\*\*) Laboratorium Farmasetika, Fakultas Farmasi  
Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

#### ABSTRAK

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan melakukan sintesis dan uji aktivitas biologis terhadap dua turunan antibiotik C-9154 dari vanilin. Sintesis turunan antibiotik C-9154 tersebut dilakukan melalui alkilasi vanilin, pembentukan derivat benzaldoksim, reduksi benzaldoksim tersubstitusi terkait, penggabungan derivat benzilamina hasil dengan maleat anhidrid dan esterifikasi bentuk asam turunan antibiotik C-9154 yang diperoleh.

Alkilasi vanilin menggunakan dietilsulfat dan basa NaOH menghasilkan 89% etil vanilin. Pembentukan oksim dari etil vanilin dilakukan menggunakan hidroksilamin hidroklorida dalam suasana basa pada suhu 50°C selama 2 jam, memberikan 89% 4-etoksi-3-metoksibenzaldoksim. Reduksi derivat benzaldoksim ini menggunakan logam Na dalam etanol menghasilkan 82% 4-etoksi-3-metoksibenzilamina. Selanjutnya derivat benzilamina tersebut direaksikan dengan maleat anhidrid dalam benzena menghasilkan bentuk asam turunan antibiotik C-9154 (6) sebanyak 74%. Esterifikasi terhadap senyawa (6) menggunakan etanol dengan katalis asam sulfat pekat pada suhu refluks selama 4 jam menghasilkan bentuk etil ester turunan antibiotik C-9154 (7) sebanyak 87%.

Uji khasiat antimikroba dikerjakan menggunakan *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli*. Berdasar pengukuran konsentrasi hambat minimum (MIC) dengan pembanding metanol dalam air ditemukan bahwa bentuk asam (6) dan bentuk etil ester turunan C-9154 (7) hasil sintesis masing-masing memberikan harga MIC 2000-3000 µg/ml dan 500-1000 µg/ml baik terhadap *Staphylococcus aureus* maupun *Eschericia coli*.

**Kata kunci:** antibiotik, vanilin, oksim, benzilamin, turunan C-9154, antimikroba.

#### ABSTRACT

This research was conducted in order to synthesize two derivatives of C-9154 antibiotic from vanillin and to evaluate their biological activities. The synthesis of these C-9154 derivatives was performed through alkylation of vanillin, preparation of the corresponding benzaldoxim, reduction of this benzaldoxim, treatment of the resulting substituted benzylamine with maleic anhydride and esterification of this C-9154 antibiotic derivative.

The alkylation of vanillin was carried out using diethylsulfate and NaOH as the base to give 89% yield of ethyl vanillin. The oxim synthesis from ethyl vanillin was performed using hydroxylamine hydrochloride under alkaline condition at 50°C for 2 hours to yield 89% 4-ethoxy-3-methoxybenzaldoxim. Reduction of this benzaldoxim with metallic Na in absolute ethanol afforded 82% yield of 4-ethoxy-3-methoxybenzylamine. This benzylamine derivative was then reacted with maleic anhydride in benzene to give the acid-form of C-9154 antibiotic derivative (6) in 74% yield. Esterification of this acid conducted

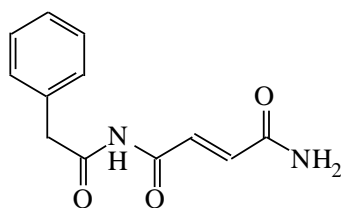
using absolute ethanol in the presence of concentrated sulfuric acid at reflux for 4 hours gave the ethyl ester-form of C-9154 antibiotic derivative (**7**) in 87% yield.

Antimicrobial activity evaluation was conducted using *Staphylococcus aureus* and *Eschericia coli*. Based on the minimum inhibition concentration (MIC) data determined using aqueous methanol as the reference, it was observed that the acid-form (**6**) and the ethyl ester-form (**7**) of C-9154 antibiotic derivative obtained respectively gave MIC values of 2000-3000 µg/ml and 500-1000 µg/ml respectively either towards *Staphylococcus aureus* or *Eschericia coli*.

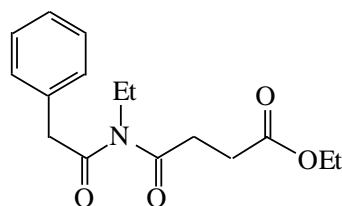
**Key words:** antibiotics, vanillin, oxim, benzylamine, C-9154 derivative, antimicrobe.

## PENDAHULUAN

Antibiotik C-9154 (**1**) merupakan antibiotik yang pertama kali ditemukan serta diisolasi dari *Streptomyces ishigakiensis* oleh Hasegawa (Hasegawa, 1975). Berdasar spektra inframerah dan proton resonansi magnet inti serta hasil studi degradasi kimia yang diperoleh, Hasegawa menyimpulkan bahwa struktur antibiotik C-9154 merupakan gabungan antara asam fenilasetat dengan fumaramida.



antibiotik C-9154 (**1**)



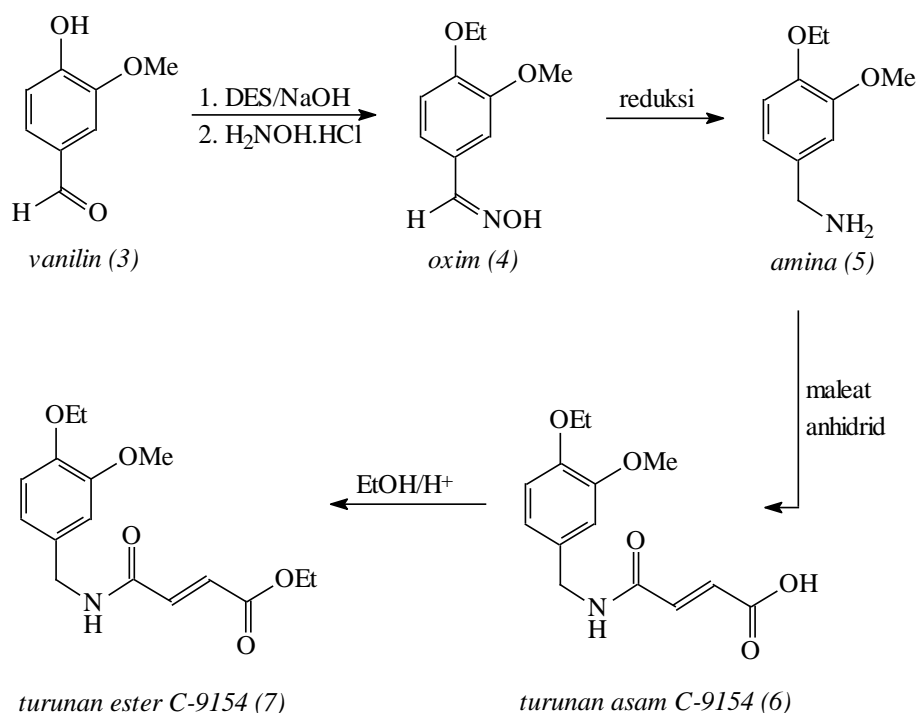
turunan C-9154 (**2**)

Gambar 1: Struktur antibiotik dan turunannya

Lebih dari 20 jenis mikroba Gram positif dan Gram negatif seperti *Escherichia*, *Proteus*, dan *Staphylococcus* telah digunakan untuk uji aktivitas biologis terhadap antibiotik C-9154 (Hasegawa, 1975). Dilaporkan bahwa senyawa tersebut menunjukkan aktivitas biologis berspektrum luas dan dapat menghambat pertumbuhan mikroba-mikroba percobaan dengan MIC 10-100 µg/ml. Adapun toksisitas akut intraperitonealnya untuk tikus adalah LD<sub>50</sub> 75 mg/kg. Sayangnya, khasiat biologis yang cukup menjanjikan ini tidak paralel dengan produksinya melalui proses fermentasi yang hanya memberikan rendemen sekitar 0,02%.

Studi pembuatan antibiotik C-9154 melalui pendekatan sintesis telah dilakukan oleh Jumina dkk. (1999) dengan menggunakan benzil klorida sebagai bahan dasar. Adapun rangkaian percobaan yang dilakukan terdiri atas substitusi benzil klorida dengan NaCN, hidrolisis parsial benzil sianida dengan HCl pekat, dan kondensasi fenilasetamida yang diperoleh dengan dietil maleat. Dilaporkan bahwa kendala cukup serius ditemui pada reaksi tahap ketiga dimana struktur turunan antibiotik yang diperoleh (**2**) menunjukkan hilangnya ikatan rangkap dua maleat. Pada studi aktivitas biologis selanjutnya (Jumina, 2000) akhirnya diketahui bahwa turunan C-9154 hasil sintesis yang telah kehilangan ikatan rangkap dua maleat tersebut (**2**) ternyata tidak menunjukkan efek hambatan terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* maupun *Eschericia coli* hingga konsentrasi 4000 µg/ml.

Berdasar struktur antibiotik C-9154 sebagaimana digambarkan di atas, adalah mungkin untuk memproduksi beberapa turunannya dari vanilin (**3**) yang merupakan bahan yang tersedia luas di pasaran. Namun demikian, mengacu pada kesulitan yang dihadapi pada sintesis turunan C-9154 dari benzil klorida seperti dipaparkan di atas maka turunan yang diperoleh melalui reaksi benzilamina tersubstitusi (**5**) dengan maleat anhidrida diduga merupakan turunan yang relatif mudah diperoleh. Adapun pengubahan gugus aldehida vanilin menjadi gugus metilamina tentunya dapat dilakukan melalui senyawa oxim terkait (Vogel, 1967) diteruskan dengan reduksi menggunakan Na/etanol. Dengan hasil yang berupa asam karboksilat maka kemungkinan penganebaran struktur-pun masih terbuka luas seperti melalui pembentukan ester dan amida. Adapun rangkaian reaksinya secara skematis dituliskan dalam gambar 2:



Gambar 2 : Bagan jalannya reaksi pembentukan ester dan amida

Jika dibandingkan dengan struktur antibiotik C-9154, struktur produk pada skema di atas memang kekurangan sebuah gugus C=O pada rantai utamanya. Namun demikian, mengingat masih terdapatnya cincin aromatik dan gugus maleat maka turunan tersebut diperkirakan juga memiliki sifat antimikroba.

## METODOLOGI

**Bahan.** Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah mutu *reagent grade* dari Merck .

**Alat .** Alat-alat yang diperlukan pada penyelenggaraan penelitian ini antara lain Spektrometer proton NMR (JEOL MY60), spektrometer IR (Shimadzu FTIR 8201 PC), kromatografi gas-spektrometer massa (GC-MS Shimadzu QP 5000).

### Sintesis etil vanilin (4a)

Ke dalam labu leher tiga kapasitas 250 ml yang telah dilengkapi dengan pendingin balik, dua corong penetes dan pengaduk magnet dimasukkan vanilin (10,0 g; 65,8 mmol). Salah satu corong penetes diisi dengan larutan natrium hidroksida (9,8 g; 245,0 mmol) dalam air (50 ml), sedang yang lainnya diisi dengan dietilsulfat ( 23,5 ml; 180,0 mmol).

Labu dipanaskan dengan pemanas air hingga semua vanilin meleleh, kemudian larutan natrium hidroksida dari salah satu corong penetes tersebut diteteskan dengan kecepatan sekitar 2 tetes per detik. Setelah sekitar 1 menit, dietilsulfat dari corong penetes yang lain mulai diteteskan dengan kecepatan serupa.

Pemanasan dengan pemanas air dihentikan setelah penetesan berjalan sekitar 5 menit dan refluks tetap berlangsung dengan menggunakan panas yang berasal dari sistem reaksi. Setelah penetesan kedua pereaksi selesai (45 menit), refluks diteruskan selama 30 menit. Selanjutnya campuran reaksi dituang ke dalam gelas piala dan dibiarkan semalam. Kristal etil vanilin yang terbentuk disaring, kemudian digerus di dalam cawan porselin dengan air dingin, disaring kembali dan dikeringkan. Diperoleh kristal berwarna kuning kecoklatan dengan titik lebur 45-46°C dan rendemen 82%. Kebenaran struktur produk diuji dengan spektrum IR dan proton NMR.

**Reaksi etil vanilin dengan hidroksilamin hidroklorida (4b)**

Etil vanilin (1,0 g; 5,56 mmol) dilarutkan dalam etanol 95% (4 ml) dalam labu alas sambil diaduk, kemudian ke dalamnya ditambahkan larutan hidroksilamin hidroklorida (0,51 g; 7,23 mmol) dalam air (2 ml) yang telah dihangatkan pada suhu 50°C. Sambil diaduk ke dalam campuran ditambahkan perlahan-lahan larutan natrium hidroksida (0,36 g; 8,90 mmol) dalam air (2 ml).

Campuran diaduk pada suhu kamar selama 2 jam, selanjutnya ditambahkan air dingin (25 ml) dan diaduk selama 15 menit. Endapan yang terbentuk disaring, dicuci dengan sedikit air (15 ml) dan dikeringkan. Diperoleh hasil 4-etoksi-3-metoksibenzaldoxim sebagai endapan putih (0,96 g; 89%). Identifikasi produk dilakukan dengan spektrum IR.

**Reduksi 4-etoksi-3-metoksibenzaldoxim (5)**

Ke dalam labu alas bulat yang dilengkapi dengan pengaduk magnet dan pendingin dimasukkan 4-etoksi-3-metoksibenzaldoxim (0,6 g; 3,10 mmol) dan etanol absolut (7 ml). Campuran diaduk dan dipanaskan di atas penangas minyak hingga tetap suhu.

Setelah suhu refluks tercapai, pemanasan dihentikan dan ke dalam campuran ditambahkan potongan-potongan logam natrium (0,71 g; 31,0 mmol) melalui pendingin. Penambahan logam natrium dilakukan secepat mungkin, namun dengan tetap menjaga agar campuran tidak naik melalui pendingin hingga tumpah.

Pengadukan diteruskan hingga semua logam natrium larut, selanjutnya campuran didiamkan hingga agak dingin, kemudian dievaporasi. Residu diencerkan dengan air (30 ml) dengan disertai pengadukan, dan diekstraksi dengan diklorometana (3x30 ml).

Lapisan organik digabung, dicuci dengan air (2x60 ml), dikeringkan dengan natrium sulfat anhidrous dan dievaporasi. Diperoleh hasil 4-etoksi-3-metoksibenzilamina sebagai cairan kuning pucat (0,46 g; 82%). Identifikasi produk dilakukan dengan spektrum IR dan proton NMR.

**Reaksi 4-etoksi-3-metoksibenzilamina dengan maleat anhidrid (6)**

Larutan maleat anhidrid (1,75 g; 17,86 mmol) dalam benzena (15 ml) diaduk dan dipanaskan pada suhu 50°C. Ke dalam larutan ini selanjutnya ditambahkan bertetes-tetes larutan 4-etoksi-3-metoksibenzilamina (2,5 g; 13,81 mmol) dalam benzena (15 ml). Pemanasan diteruskan selama 30 menit, kemudian didiamkan hingga agak dingin dan ke dalamnya ditambahkan asam klorida pekat (10 tetes) sambil terus diaduk.

Campuran diencerkan dengan etil asetat (70 ml), kemudian dipindahkan ke dalam corong pisah, dan dicuci dengan air (2x70 ml). Lapisan organik dikeringkan dengan Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidrous dan dievaporasi. Diperoleh hasil N-(4-etoksi-3-metoksibenzil)maleimida monoasam berupa padatan coklat (2,86 g; 74%). Identifikasi produk dilakukan dengan spektrum proton NMR.

**Sintesis bentuk ester turunan C-9154 (7)**

Campuran N-(4-etoksi-3-metoksibenzil)maleimida monoasam (1,5 g; 5,38 mmol) dan etanol absolut (15 ml) serta asam sulfat pekat (5 tetes) diaduk dan dipanaskan pada suhu refluks selama 4 jam. Campuran dibiarkan hingga agak dingin, kemudian kelebihan solvenya diuapkan dengan evaporator.

Residu diencerkan dengan air (30 ml) dan diekstraksi dengan diklorometana (3x40 ml). Lapisan organik dicuci dengan air (2x60 ml), dikeringkan dengan natrium sulfat anhidrous dan dievaporasi. Diperoleh hasil berupa cairan kental (1,43 g; 87%). Struktur produk dibuktikan dengan spektrum IR dan proton NMR.

**Uji anti mikroba**

Dibuat seri larutan obat hasil sintesis dengan kadar berbeda, kemudian dimasukkan ke dalam tabung dengan berbagai kadar obat yang telah diisi dengan *staphylococcus aureus* dan *E. coli* media agar sebagai bakteri gram positif dan negatif; diinkubasikan pada suhu 37°C dan dilihat daya hambatnya.

Turunan antibiotik C-9154 dari lignin hasil sintesis dimasukkan ke dalam piring petri yang diisi bakteri gram positif dan negatif. Selanjutnya diinkubasikan pada suhu 37°C dalam media piring agar dan dilihat daya hambat pertumbuhan bakterinya.

## HASIL PERCOBAAN DAN PEMBAHASAN

### Sintesis turunan antibiotik C-9154

Sintesis turunan antibiotik C-9154 dikerjakan dalam 5 tahap reaksi yaitu etilasi vanilin, pembentukan derivat benzaldoksim, reduksi derivat benzaldoksim, reaksi benzilamina tersubstitusi dengan maleat anhidrid dan esterifikasi bentuk asam turunan C-9154 yang diperoleh, (gambar 2).

Etilasi vanilin dikerjakan guna mengubah gugus OH vanilin menjadi gugus etil eter. Hal ini penting karena jika tidak dilakukan maka keberadaan gugus OH vanilin yang bersifat asam diduga dapat mengganggu tahap-tahap reaksi selanjutnya, khususnya dalam hal reaksi yang melibatkan basa atau nukleofil.

Etilasi vanilin dilakukan melalui reaksi vanilin dengan 3,7 ekuivalen NaOH dan 2,7 ekuivalen dietilsulfat dalam pelarut air pada suhu  $80^{\circ}\text{C}$  selama 1,5 jam sebagaimana prosedur Vogel (Vogel, 1967) untuk metilasi vanilin. Natrium hidroksida diperlukan guna mengubah vanilin menjadi garam natrium vanilat yang merupakan nukleofil lebih kuat. Penambahan NaOH dan dietilsulfat dilakukan secara bertahap dan saling bergantian dalam upaya memperoleh hasil se-optimal mungkin. Hasil etilvanilin atau 4-etoksi-3-metoksibenzaldehida yang diperoleh berupa kristal berwarna kuning kecoklatan dengan titik lebur  $45^{\circ}\text{C}$  dan rendemen 89%.

Spektrum IR etil vanilin hasil menunjukkan adanya serapan gugus karbonil aldehida pada  $1682\text{ cm}^{-1}$ . Keberadaan gugus aldehida tersebut diperkuat oleh pita pada  $2840\text{ cm}^{-1}$  yang berasal dari vibrasi rentangan (*stretching*) C-H aldehida. Pada sisi lain, spektrum IR yang diperoleh tidak lagi memperlihatkan vibrasi rentangan OH yang biasanya muncul di sekitar  $3500\text{ cm}^{-1}$ .

Bukti lebih jelas diberikan oleh spektrum proton NMR dari senyawa bersangkutan yang memperlihatkan adanya 5 jenis proton. Puncak singlet (1 proton) yang muncul pada 9,9 ppm merupakan puncak proton gugus aldehida. Signal pada  $\delta$  7,4 ppm (doublet, 2 proton) dan puncak pada 7,0 ppm (doublet, 1 proton) merupakan resonansi dari proton cincin benzena. Puncak kuartet pada 4,2 ppm (2 proton) dan singlet pada 3,95 ppm (3 proton) masing-masing merupakan resonansi dari proton  $\text{CH}_2$  gugus etil dan proton  $\text{OCH}_3$ . Adapun puncak triplet pada 1,5 ppm (3 proton) adalah resonansi dari proton  $\text{CH}_3$  gugus etil.

Sintesis 4-etoksi-3-metoksibenzaldoksim dilakukan melalui reaksi etil vanilin dengan hidroksilamin hidroklorida dan 1,6 ekuivalen NaOH dalam pelarut etanol pada suhu  $50^{\circ}\text{C}$  selama 2 jam. Isolasi produk-pun dapat dilakukan dengan mudah karena hasil reaksi mengendap setelah dilakukan pengenceran dengan air. Diperoleh 4-etoksi-3-metoksibenzaldoksim yang merupakan kristal berwarna putih dengan rendemen 89%.

Spektrum IR dari senyawa hasil tersebut jelas menunjukkan hilangnya serapan gugus karbonil yang muncul di daerah  $1682\text{ cm}^{-1}$  pada spektrum IR etil vanilin (gambar 3). Sebagai gantinya, muncul serapan tajam pada  $3472\text{ cm}^{-1}$  yang berasal dari gugus OH. Sementara serapan  $\text{C}=\text{N}$  diperkirakan muncul sebagai puncak tajam pada  $1512\text{ cm}^{-1}$ , serapan lainnya yang berasal dari CH aromatik ( $2980\text{ cm}^{-1}$ ), CH alifatik ( $2935\text{--}2964\text{ cm}^{-1}$ ),  $\text{C}=\text{C}$  ( $1582\text{--}1605\text{ cm}^{-1}$ ),  $\text{C}-\text{C}$  ( $1139\text{--}1265\text{ cm}^{-1}$ ) dan  $\text{C}-\text{O}$  ( $1031\text{ cm}^{-1}$ ) tidak jauh berbeda dengan pola serapan yang terdapat pada spektrum IR etil vanilin (gambar 5).

Reduksi 4-etoksi-3-metoksibenzaldoksim dikerjakan dengan cara menambah-kan potongan-potongan logam Na ke dalam larutan 4-etoksi-3-metoksibenzaldoksim dalam etanol yang telah dipanaskan pada suhu refluks. Dalam hal ini pemanasan hanya dilakukan pada awal reaksi saja, dan selanjutnya campuran direfluks menggunakan panas yang berasal dari reaksi eksotermis antara logam Na dengan etanol. Diperoleh hasil 4-etoksi-3-metoksibenzilamina sebagai cairan kuning pucat dengan rendemen 82%.

Identifikasi struktur 4-etoksi-3-metoksibenzilamina dengan spektrum IR jelas menunjukkan hilangnya frekuensi rentangan OH yang muncul di daerah  $3472\text{ cm}^{-1}$  pada spektrum IR bahan dasar 4-etoksi-3-metoksibenzaldoksim. Sebagai gantinya muncul dua serapan dengan intensitas hampir sama pada  $3301$  dan  $3315\text{ cm}^{-1}$  yang menunjukkan adanya gugus  $\text{NH}_2$ .

Identifikasi dengan spektrum proton NMR (gambar 6) memberikan 4 kelompok proton. Puncak doublet di sekitar 6,9 ppm (3H) jelas merupakan resonansi dari proton benzena. Sementara puncak singlet pada 2,3 ppm (2H) diduga berasal dari resonansi proton  $\text{NH}_2$ , puncak singlet pada 1,35 ppm (3H) merupakan resonansi dari proton metil gugus  $\text{CH}_2\text{CH}_3$ . Adapun puncak pada 3,8-4,1 ppm yang setara dengan 7 proton

diperkirakan berasal dari resonansi proton metilena gugus  $\text{CH}_2\text{CH}_3$  (4.05 ppm, kuartet),  $\text{OCH}_3$  (singlet, 3,8 ppm), dan proton  $\text{CH}_2$  benilik (3,7 ppm, 2H).

Kondensasi 4-etoksi-3-metoksibenzilamina dilakukan dengan cara mereaksikan 4-etoksi-3-metoksibenzilamina dengan maleat anhidrid dalam pelarut benzena pada suhu  $50^\circ\text{C}$  selama 30 menit. Penambahan HCl pekat ke dalam campuran pada akhir reaksi dimaksudkan untuk mengubah garam karboksilat yang mungkin terbentuk akibat reaksi antara bentuk asam turunan C-9154 yang diperoleh dengan 4-etoksi-3-metoksibenzilamina yang merupakan basa cukup kuat. Diperoleh hasil berupa padatan coklat dengan rendemen 81%.

Identifikasi struktur produk dengan spektrum proton NMR (gambar 4) menunjukkan adanya puncak singlet di daerah *down field* (13,8 ppm, 1 H) yang berasal dari proton gugus  $\text{COOH}$ . Puncak singlet melebar di daerah 8,9 ppm (1 H) dan singlet tajam di sekitar 6,9 ppm (3 H) masing-masing diperkirakan berasal dari resonansi proton NH dan proton benzena. Multiplet di sekitar 6,4 ppm (2 H) diduga berasal dari proton  $\text{CH}=\text{CH}$  fragmen maleat, sedangkan singlet pada 4,8 ppm (2 H) dan 3,9 ppm masing-masing diperkirakan berasal dari proton  $\text{CH}_2$  benilik dan proton gugus  $\text{CH}_3$  metoksi. Adapun eksistensi gugus etil ditunjukkan oleh munculnya puncak triplet pada 1,65 ppm (3 H) yang berasal dari resonansi proton  $\text{CH}_3$  dan puncak kuartet di sekitar 4,05 ppm dari proton  $\text{CH}_2$  yang sedikit overlap dengan signal proton  $\text{OCH}_3$  dan proton  $\text{CH}_2$  benilik.

Reaksi esterifikasi dilakukan dengan cara merefluks campuran bentuk asam turunan C-9154 yang telah diperoleh dengan etanol absolut menggunakan katalis asam sulfat pekat selama 4 jam. Identifikasi dengan TLC jelas menunjukkan terbentuknya produk. Isolasi produk tersebut dilakukan melalui kombinasi evaporasi dan ekstraksi biasa. Diperoleh hasil berupa cairan kental berwarna kuning jernih dengan rendemen 87%.

Identifikasi produk dengan spektrum IR menunjukkan tidak adanya serapan OH dari gugus  $\text{COOH}$  yang lazim muncul sebagai puncak tajam melebar di sekitar  $3300\text{--}3500\text{ cm}^{-1}$ . Adapun puncak lemah di sekitar  $3450\text{ cm}^{-1}$  diperkirakan berasal dari frekuensi rentangan NH primer. Serupa dengan itu, spektrum proton NMR senyawa tersebut (gambar 6) tidak memperlihatkan signal proton gugus  $\text{COOH}$  yang lazim muncul di sekitar 12-14 ppm. Walaupun senyawa yang diperoleh belum sangat murni sebagaimana ditunjukkan oleh munculnya puncak kecil di sekitar 9,9 ppm, spektrum yang diperoleh masih cukup jelas mendukung struktur produk yang diharapkan.

Signal lemah di sekitar 7,3 ppm diduga berasal dari proton NH, sedangkan puncak multiplet pada 6,9 ppm jelas berasal dari resonansi proton aromatik. Eksistensi proton  $\text{CH}=\text{CH}$  gugus maleat ditunjukkan oleh puncak singlet pada 6,75 dan 6,2 ppm, sedangkan keberadaan gugus  $\text{CH}_2$  benilik diindikasikan oleh puncak singlet pada 4,7 ppm.

Puncak multiplet di sekitar 4,1 ppm diduga merupakan overlap dari proton  $\text{CH}_2$  kedua gugus etil, dan demikian pula puncak multiplet pada 1,2 ppm diperkirakan sebagai overlap dari proton  $\text{CH}_3$  kedua gugus etil. Adapun singlet di sekitar 3,9 ppm merupakan resonansi khas dari proton gugus  $\text{OCH}_3$ . Jadi, keseluruhan data IR dan proton NMR tersebut konsisten dengan struktur yang diharapkan.

#### Uji aktivitas biologis

Uji aktivitas biologis dilakukan terhadap bentuk asam dan ester turunan antibiotik C-9154 hasil percobaan dengan menggunakan *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli* sebagai wakil bakteri gram positif dan gram negatif. Hasil pengukuran kadar hambat minimum (MIC) dari kedua senyawa tersebut terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli* dengan pembanding metanol dalam air (Tabel I).

Tabel I, Hasil Uji Aktivitas Senyawa Hasil Sintesis

Senyawa	Kadar hambat minimum ( $\mu\text{g/ml}$ )	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Eschericia coli</i>
Amida asam (6)	2000-2500	2500-3000
Amida ester (7)	500-1000	500-1000

Data di atas memperlihatkan bahwa senyawa **6** telah menunjukkan efek hambatan terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* maupun *Eschericia coli* walaupun efek hambatan tersebut masih tergolong lemah (MIC 2000-3000 µg/ml). Khasiat antimikroba yang cukup signifikan ditemukan pada senyawa **7** dengan MIC 500-1000 µg/ml baik terhadap *Staphylococcus aureus* maupun *Eschericia coli*. Peningkatan khasiat hingga sekitar 4 kali tersebut cukup menarik mengingat bahwa senyawa **7** hanya merupakan bentuk etil ester dari senyawa **6**. Atas dasar kemudahan perubahan gugus fungsional seperti ini dan mengingat tingginya tingkat efektivitas jalur sintesis yang dikembangkan maka kemungkinan diperolehnya turunan antibiotik yang lebih efektif di waktu yang akan datang sungguh terbuka lebar.

## KESIMPULAN

Bentuk asam turunan antibiotik C-9154 dari vanilin dapat dibuat secara efisien melalui reaksi 4-etoksi-3-metoksibenzilamina dengan maleat anhidrid. 4-Etoksi-3-metoksibenzilamina sendiri diperoleh dengan mudah melalui etilasi vanilin yang diteruskan dengan pembentukan oksim dan reduksi oksim tersebut dengan sistem Na/etanol.

Esterifikasi terhadap bentuk asam turunan C-9154 dengan etanol dan katalis asam sulfat pekat menghasilkan etil ester turunan C-9154 dengan rendemen relatif tinggi.

Khasiat antimikroba dari bentuk asam turunan C-9154 (**6**) masih tergolong rendah sebagaimana ditunjukkan oleh harga MIC-nya terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli* yang berkisar antara 2000-3000 µg/ml. Namun demikian, peningkatan daya antimikroba hingga MIC 500-1000 µg/ml terhadap mikroba yang sama ditemukan pada senyawa **7** yang hanya merupakan bentuk etil ester dari senyawa.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih yang sedalam-sedalamnya penulis sampaikan kepada Proyek Pengkajian dan Penelitian Ilmu Pengetahuan Terapan Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Departemen Pendidikan dan Kebudayaan RI yang telah memberikan dukungan dana melalui perjanjian pelaksanaan penelitian Hibah Bersaing nomor: 019/P2IPT/HB/VI/1999 tanggal 1 Juni 1999.

## DAFTAR PUSTAKA

- Hasegawa, J., 1975, *J. Antibiotics*, 28, 713-717.
- Jumina, Siswanta, D. dan Zulkarnain, A.K., 1999, *Pemanfaatan Lignin Dari Limbah Industri Kertas dan Serbuk Gergaji Untuk Pembuatan Turunan Antibiotik C-9154*, Laporan Penelitian Hibah Bersaing VII/1 Perguruan Tinggi, Lembaga Penelitian UGM, Yogyakarta.
- Jumina, Siswanta, D. dan Zulkarnain, A.K., 2000, *Pemanfaatan Lignin Dari Limbah Industri Kertas dan Serbuk Gergaji Untuk Pembuatan Turunan Antibiotik C-9154*, Laporan Penelitian Hibah Bersaing VII/2 Perguruan Tinggi, Lembaga Penelitian UGM, Yogyakarta.
- Jumina, Siswanta, D. dan Zulkarnain, A.K., *Studi Pembuatan Turunan Antibiotik C-9154 dari Benzil Klorida*, 1999, Berkala Ilmiah MIPA, No. 2 Tahun IX, 9-23.
- Streitwieser, A., 1992, *An Introduction to Organic Chemistry*, Edisi 1, 228-234, John Wiley and Sons, New York.
- Vogel, A.I., 1967, *A Text-Book of Practical Organic Chemistry*, Edisi 3, 761-762, Longmans, London.